

学位授与番号：乙 3 0 6 8 号

氏 名：藤田明彦

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 25 年 9 月 11 日

学位論文名：

大腸癌組織における Rho dissociation inhibitor 2 発現の臨床病理学的有用性

主論文名：

Clinical significance of Rho GDP dissociation inhibitor 2 in colorectal carcinoma（大腸癌組織における Rho dissociation inhibitor 2 発現の臨床病理学的有用性）

学位審査委員長：田尻久雄教授

学位審査委員：池上雅博教授、岡本愛光教授

## 論文要旨

論文提出者名	藤田 明彦	指導教授名	矢永 勝彦
<b>主論文題名</b> Clinical significance of Rho GDP dissociation inhibitor 2 in colorectal carcinoma(大腸癌組織における Rho dissociation inhibitor 2 発現の臨床病理学的有用性) Fujita.A, Shida.A, Fujioka.S, Kurihara.H, Okamoto.T, Yanaga.K International Journal of Clinical Oncology Vol.17 No.2 April 2012			
<b>要約</b>			
〔背景〕 大腸癌の進行・再発症例は予後不良であり、治療成績の改善は大きな課題のひとつである。Rho 蛋白は細胞内で GTP と結合し活性型となり、細胞の分裂や運動に重要な役割をもつ。しかし Rho GDP dissociation inhibitor 2 (RhoGDI2)により一部は不活性型にとどまり、癌の遊走・浸潤を阻害しているものと推測されている。近年、RhoGDI2 が膀胱癌の肺転移抑制因子である可能性が報告された。本研究の目的は大腸癌組織において RhoGDI2 mRNA 発現が臨床病理学的因子や生命予後に相関性を認めるのか否かを検討することである。			
〔方法〕 大腸癌患者 50 症例の臨床検体から腫瘍組織と正常粘膜の RNA を抽出し、semiquantitative RT-PCR にて RhoGDI2 と GAPDH の発現を調べ、画像解析を行った。大腸癌患者 5 人のパラフィンブロックを薄切し、RhoGDI2 polyclonal 抗体と反応させ、免疫染色による RhoGDI2 発現の局在を調べた。			
〔結果〕 RhoGDI2 mRNA は正常粘膜と比較して有意に大腸癌組織内で高発現であった。stageⅢの大腸癌患者の無再発生存期間に関して、RhoGDI2 mRNA 陽性群は RhoGDI2 mRNA 陰性群に対して有意に良好であった。			
〔考察〕 多変量解析の結果、RhoGDI2 は無再発生存期間において、独立した予後改善規定因子であることが明らかとなった。今後は、RhoGDI2 が癌組織内で高発現となる理由、あるいは癌浸潤や転移能力を抑制する機序を究明する研究が有用であると考えられた。			

## 論文審査の結果の要旨

藤田明彦氏の学位申請論文は、“Clinical significance of Rho GDP dissociation inhibitor 2 in colorectal carcinoma”（大腸癌組織における Rho GDP dissociation inhibitor 2 発現の臨床病理学的有用性）です。以下に、主論文の要旨と論文審査会の審査結果をご報告いたします。

近年、大腸癌の罹患数は増加しており、その治療成績の改善は今後の大きな課題の一つです。本研究では Rho 蛋白という細胞質内に存在し、主に細胞骨格の制御（細胞の遊走や細胞分裂の誘導など）に働く蛋白質に着目しました。Rho 蛋白は、活性型である GTP 結合型と、不活性型である GDP 結合型の間の変換によりスイッチ機能を発揮します。RhoGDI2（Rho GDP dissociation inhibitor 2）は Rho 蛋白を不活性の状態にとどめ、癌細胞の転移や浸潤、細胞分裂を阻害しているものと推測されています。近年、膀胱癌の癌組織内において RhoGDI2 の高発現と膀胱癌の肺転移の逆相関が報告されています。本研究の目的は、大腸癌組織内における RhoGDI2 mRNA 発現が臨床病理学的因子や生命予後との間に相関性を有するか否かを検討することです。

大腸癌患者 50 症例の臨床検体から腫瘍組織と正常粘膜の RNA を抽出し、semi-quantitative RT-PCR にて RhoGDI2 と GAPDH の発現を調べ、電気泳動での画像解析を行いました。相対的 RhoGDI2 発現量が 0.086 以上であれば陽性とし、それ未満は陰性と判断しました。また、大腸癌患者 5 人のパラフィンブロックを薄切し、RhoGDI2 polyclonal 抗体と反応させ、免疫染色による RhoGDI2 発現の有無と局在を調べました。

RhoGDI2 mRNA は正常粘膜に比べ、大腸癌組織内で有意に高発現を示しました。また RhoGDI2 mRNA 陽性例は、50 症例中癌組織で 8 症例、正常粘膜で 4 症例でしたが、相関性は認められませんでした。また RhoGDI2 mRNA の発現と臨床病理学的因子との関連性には明らかな相関性は認めませんでした。しかし、有意差には至らないものの、RhoGDI2 mRNA 陽性の全 8 症例で肝転移を認めなかったことは注目に値する結果です。

stage III の 19 症例の無再発生存期間（RFS）に関して、RhoGDI2 mRNA 陽性群は RhoGDI2 mRNA 陰性群に対して有意に予後良好でした（ $P < 0.05$ ）。stage I、II、III を併せた 37 症例を対象にパラメーターに腫瘍深達度、静脈侵襲、リンパ管侵襲、リンパ節転移、RhoGDI2 mRNA を用い、多変量解析を行った結果、RhoGDI2 は無再発生存期間（RFS）について独立した予後改善規定因子でした。免疫染色を行った 5 症例については正常大腸粘膜の腺細胞よりも大腸癌組織の細胞質に RhoGDI2 が強く発現していました。

以上の結果より、RhoGDI2 mRNA 発現群では肝転移症例が皆無であったことから大腸癌の肝転移抑制因子である可能性が考えられます。無再発生存期間に関しては、stage III 症例の RhoGDI2 mRNA 陽性群は陰性群に対して有意に予後良好であり、RhoGDI2 が独立した予後改善規定因子であることが明らかになりました。今後は、RhoGDI2 が癌組織内で高発現となる理由や癌の浸潤や転移能力を抑制する機序を明確にするための研究が必要と考えられます。

RhoGDI2 の研究においては免疫染色だけを行った報告例は散見されますが、本研究のように臨床検体を RT-PCR を用い検討した報告例は、他の癌腫を含めても初めてであり、臨床的意義がきわめて高いものと考えられます。

本論文に対する審査会は、平成 25 年 8 月 8 日（木）に池上雅博教授、岡本愛光教授のご臨席のもと開催され、両教授より貴重なご意見、示唆をいただきました。席上 1) RhoGDI2 に注目した理由、2) RhoGDI2 mRNA 発現に関して「陽性」と「陰性」の違い、すなわちカットオフの決定について、3) RhoGDI2 は無再発生存期間では独立した予後改善因子と結論されたが、全生存期間では同様の結果が得られなかった理由、4) 大腸癌組織のどの部分から検体を採取して検索したのか。浸潤部（浸潤先進部）か粘膜内か、5) RhoGDI2 が肝転移に抑制的に働くとの推量であるが、癌の転移経路のなかでどの部分に関する可能性があるのか、6) 本研究結果は、今後臨床応用が可能かどうか、などの質問がありましたが、これらについて藤田明彦氏は適切な回答と意見を述べました。その後、審査会は慎重審議の結果、本論文を学位申請論文として十分に評価あるものと認めた次第です。